

(19)



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 644 426 A1**

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: **94113833.1**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: **G01N 35/10, B01L 11/00,  
G01N 33/543**

(22) Anmeldetag: **03.09.94**

(30) Priorität: **17.09.93 CH 2800/93**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**22.03.95 Patentblatt 95/12**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL  
PT**

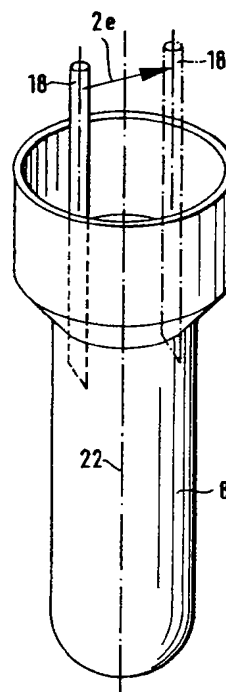
(71) Anmelder: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG  
Postfach 3255  
CH-4002 Basel (CH)**

(72) Erfinder: **Knobel, Rolf  
18 Schöngrund  
CH-6343 Rotkreuz (CH)**

(74) Vertreter: **Buntz, Gerhard et al  
Grenzacherstrasse 124  
Postfach 3255  
CH-4002 Basel (CH)**

(54) **Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln und ein Verfahren zur Durchführung der Suspension.**

(57) Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln, wobei das Analysengerät eine Transporteinrichtung enthält, die eine Positionierung der Pipettieradel (18) in einem Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefässes (8) ermöglicht. Die Suspension der Partikel erfolgt durch portionsweise Abgabe von Reagenzflüssigkeit an zwei unterschiedlichen Positionen im Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) eines Reaktionsgefässes (8), wobei eine Strömung im Reaktionsgefäss erzeugt wird, die die Suspension der Partikel ausschliesslich durch das Einspritzen von Reagenz ermöglicht, so dass auf einen nachfolgenden Schüttelvorgang verzichtet werden kann.



**Fig. 6**

**EP 0 644 426 A1**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln und ein Verfahren zur Durchführung der Suspension.

Die Erfindung eignet sich beispielsweise zur Suspension von magnetischen Mikropartikeln während der Reagenzzugabe in einer Bearbeitungsstation zur automatisierten Durchführung von DNA-Detektionen und Immunoassays, ist aber nicht auf diese Einsatzgebiete beschränkt.

Bei vielen Analysenverfahren wie z.B. auch bei den DNA-Detektionen und zur Durchführung von Immunoassays ist die Trennung von fester und flüssiger Phase mit anschliessendem Waschen der festen Phase notwendig.

Auf den letzten Separationsschritt im Waschverfahren folgt üblicherweise der Transport der Probe zu einer Bearbeitungsstation (beispielsweise dem Inkubator), wo die Zugabe von Reagenzlösungen erfolgt. Auf konventionelle Weise wird die Zugabe derart durchgeführt, dass die Lösungen mit Hilfe einer Pipettierspitze in die Mitte des Reaktionsgefässes einpipettiert werden. Ein gutes Mischen von Reagenz und Festphase ist für den schnellen und effizienten Verlauf der anschliessenden chemischen Reaktion (beispielsweise während der Inkubation) nötig. Um die Suspension der festen Phase möglichst vollständig durchzuführen, kann beim Stand der Technik nicht auf einen Schüttelvorgang verzichtet werden, wobei der Reaktionsbehälter oder die gesamte Bearbeitungsstation geschüttelt werden kann. Hierzu geeignete Vorrichtungen erfordern einen zusätzlichen technischen Aufwand, welcher mit Kosten verbunden ist und zudem die Gesamtanlage räumlich vergrössert. Auch geht ein derartiger Schüttelvorgang in die Gesamtbearbeitungszeit in negativer Weise mit ein.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln bereitzustellen, das diese Nachteile nicht aufweist.

Erfindungsgemäss wird die Aufgabe gelöst durch ein Analysengerät das folgende Komponenten enthält:

- eine Pipettiervorrichtung mit einer Transporteinrichtung, die dazu dient, eine Pipettiernadel in drei zueinander senkrechten Richtungen zu bewegen,

- wenigstens ein Reaktionsgefäss mit einer Mittellängsachse, wobei das Reaktionsgefäss die zu suspendierenden Partikel enthält,

- wenigstens eine Bearbeitungsstation, in der das Reaktionsgefäss angeordnet werden kann, und an der eine bestimmte Menge eines Reagenzes durch die Pipettiernadel in das Reaktionsgefäss pipettierbar ist, wobei das Analysengerät dadurch gekennzeichnet ist, dass die Transporteinrichtung

dazu eingerichtet ist, die Pipettiernadel im Reaktionsgefäss parallel zu und in einem bestimmten Abstand  $e$  von der Mittellängsachse des Reaktionsgefässes zu positionieren, sodass die Position der Pipettiernadel im Reagenzglas während der Pipettierung von Flüssigkeit unverändert bleibt.

Der Abstand ist der Bereich zwischen der Mittellängsachse des Reaktionsgefässes und der Reaktionsgefäss-Wand.

Bearbeitungsstationen können im Rahmen der vorliegenden Erfindung Stationen in Inkubatoren, Wascheinrichtungen und dergleichen sein.

Partikel sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Niederschläge von schwerlöslichen Verbindungen, magnetische Micropartikel, die als Träger in Festphasenimmunoassays verwendet werden, magnetische Microbeads und dergleichen. Vorzugsweise sind die Ablagerungen magnetische Microbeads.

Pipettiernadeln sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung vorteilhafterweise derart gestaltet, dass ein Durchstossen eines Reaktionsgefässedekels möglich ist.

Der Erfindung liegt weiterhin die Aufgabe zugrunde ein Verfahren bereitzustellen, wobei durch Zugabe einer bestimmten Menge einer Flüssigkeit in ein Reaktionsgefäss, die zu suspendierenden Partikel ohne die oben beschriebenen Nachteile suspendiert werden können.

Die Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Suspension von Partikeln, die sich in einem Reaktionsgefäss befinden, bei dem ein vorbestimmtes Volumen einer Reagenzflüssigkeit mittels einer durch eine Transporteinrichtung bewegbaren Pipettiernadel in das Reaktionsgefäss gegeben wird, und ist dadurch gekennzeichnet, dass die Pipettiernadel durch die Transporteinrichtung zu einer ersten Position in einem Abstand von der Mittellängsachse des Reaktionsgefässes gebracht wird,

mit der Pipettiernadel in dieser ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäss unter Bildung eines ersten Wirbels eingespritzt wird, wobei die Position der Pipettiernadel im Reagenzglas während des Einspritzens unverändert bleibt.

die Pipettiernadel durch die Transporteinrichtung zu einer zweiten Position in einem Abstand  $e$  von der Mittellängsachse des Reaktionsgefässes gebracht wird,

mit der Pipettiernadel in dieser zweiten Position der restliche Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäss unter Bildung eines zweiten Wirbels eingespritzt wird, wobei der Wirbel in bezug auf die Drehrichtung des ersten Wirbels die entgegengesetzte Drehrichtung hat.

Die Partikel können in bezug auf die Mittellängsachse an diametral gegenüberliegenden Wandbereichen des Reaktionsgefäßes haften. Das ist beispielsweise dann der Fall, wenn die Partikel magnetische Mikropartikel sind und zuvor eine Trennung von fester und flüssiger Phase durch zwei sich diametral gegenüberliegende Magneten erfolgte.

Das Verfahren eignet sich nicht nur zur Suspension von Partikeln, die in bezug auf die Mittellängsachse an diametral gegenüberliegenden Wandbereichen abgelagert sind. Die Pipettieradel kann, nachdem in einer ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäß pipettiert wurde durch Rotation zu einer beliebigen zweiten Position im Abstand von der Mittellängsachse des Reaktionsgefäßes verschoben werden, wo die dort abgelagerten Partikel durch Zugabe des restlichen Teilvolumens der Reagenzflüssigkeit suspendiert werden. Auch kann eine bereits im Reaktionsgefäß befindliche Lösung gut mit weiteren Lösungen vermischt werden.

Die durch die Erfindung erreichten Vorteile sind im wesentlichen darin zu sehen, dass durch die portionsweise Abgabe von Reagenzflüssigkeit an zwei unterschiedlichen Positionen eines Reaktionsgefäßes eine Strömung im Reaktionsgefäß erzeugt wird, die die Suspension der festen Phase ausschliesslich durch das Einspritzen von Reagenz ermöglicht, sodass auf einen nachfolgenden Schüttelvorgang verzichtet werden kann. So kann durch die erfindungsgemässe Vorrichtung in Analysengeräten eine optimale Suspension von Partikeln während der Reagenzzugabe erfolgen allein durch die Wahl eines geeigneten Steuerprogramms der Pipettieradel, sodass eine möglichst hohe Anzahl Proben pro Zeiteinheit bearbeitet werden kann.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird im folgenden anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 eine perspektivische Gesamtdarstellung eines erfindungsgemässen Analysengerätes,

Fig. 2 - 5 das erfindungsgemässe Verfahren zur Suspension von Partikeln,

Fig. 6 in axonometrischer Darstellung die erfindungsgemässe Pipettenführung gemäss den Figuren 2 bis 5,

Fig. 7 eine weitere Möglichkeit einer erfindungsgemässen Pipettenführung.

Beispielhaft wird ein Analysengerät zur automatisierten Durchführung von Festphasenimmunoassays vorgestellt, bei dem die feste Phase aus magnetischen Mikropartikeln besteht und die Trennung von fester und flüssiger Phase mit Hilfe von Permanentmagneten erfolgt. Nach der Trennung sind die Mikropartikel an zwei diametral gegenüberliegenden Wandbereichen des Reaktions-

gefäßes niedergeschlagen.

In Fig. 1 ist ein Analysengerät 1 dargestellt, welches beispielsweise zur Durchführung von DNA-Detektionen ausgelegt ist. In dem Analysengerät 1 sind enthalten: Einrichtungen zur Durchführung obengenannter DNA-Detektionen, hier z.B. zwei Racks 3,4 mit Reagenzien auf einem Schütteltisch 5, drei Racks 7 mit Einwegreagenzbehältern 8, ein temperierbarer Inkubator 9, eine Wascheinrichtung 11, ein Photometer 12.

Der Proben- und Reagenzientransfer sowie der Reaktionsgefässe-Transfer wird durch eine im x-y Koordinatensystem bewegbare Transporteinrichtung 13 ermöglicht, welche eine Pipettiereinrichtung 14 mit einer Pipettieradel 18 sowie einen Reaktionsgefäßesgreifer 15, beide in z-Richtung bewegbar, aufweist.

Zum Reagenzientransfer wird die Pipettieradel 18 zu einem Rack 3, 4 geführt. Dort wird Reagenz abgesaugt. Anschliessend wird die Pipettieradel 18 zu einem Reaktionsgefäß 8 geführt, wo die Reagenzabgabe erfolgt.

Über eine Bedienebene 16 und / oder einen Barcode - Lesegriffel 17 können Prozessparameter eingegeben werden. Die CPU steuert und koordiniert sämtliche Prozessvorgänge.

Fig. 2 - 5 zeigt das erfindungsgemässe Verfahren zur Suspension magnetischer Mikropartikel.

Fig. 2 zeigt das Reaktionsgefäß 8 mit der Mittellängsachse 22. Die Partikel 19 haften an in bezug auf die Mittellängsachse 22 diametral gegenüberliegenden Innenwänden des Reaktionsgefäßes 8.

Fig. 3 zeigt die Pipettieradel 18 in der ersten Position im Abstand e von der Mittellängsachse 22. Hier wird ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit 21 eingespritzt. Der entstehende Wirbel 24 ist schematisch angedeutet.

Fig. 4 zeigt die Pipettieradel 18 in der zweiten Position im Abstand e von der Mittellängsachse 22. Hier wird der Rest des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit 21 eingespritzt. Der entstehende Wirbel 25 ist schematisch angedeutet. Man erkennt die inverse Drehrichtung.

Fig. 5 zeigt schematisch resuspendierte Partikel.

Die Verstellung der Pipettieradel 18 kann in einfacher Weise mittels der Transporteinrichtung 13 und mit einem entsprechenden Steuerprogramm (x-y-Verstellung) durchgeführt werden.

Fig. 6 zeigt die lineare Verschiebung der Pipettieradel 18 an zwei in bezug auf die Mittellängsachse 22 diametral gegenüberliegende Positionen. Der Gesamtverschiebeweg beträgt 2e.

Fig. 7 zeigt die rotierende Verschiebung der Pipettieradel 18 an in bezug auf die Mittellängsachse 22 beliebige Positionen im Abstand e.

## Patentansprüche

1. Analysengerät, das folgende Komponenten enthält:

eine Pipettiervorrichtung mit einer Transporteinrichtung, die dazu dient, eine Pipettiernadel in drei zueinander senkrechten Richtungen (x,y,z) zu bewegen,

wenigstens ein Reaktionsgefäß mit einer Mittellängsachse, wobei das Reaktionsgefäß die zu suspendierenden Partikel enthält,

wenigstens eine Bearbeitungsstation, in der das Reaktionsgefäß angeordnet werden kann, und an der eine bestimmte Menge eines Reagenzes durch die Pipettiernadel in das Reaktionsgefäß pipettierbar ist,

dadurch gekennzeichnet, dass die Transporteinrichtung (13) dazu eingerichtet ist, die Pipettiernadel (18) im Reaktionsgefäß (8) parallel zu und in einem bestimmten Abstand (e) von der Mittelachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) zu positionieren, sodass die Position der Pipettiernadel (18) im Reagenzglas (8) während der Pipettierung von Flüssigkeit (21) unverändert bleibt.

2. Analysengerät gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Pipettiernadel im Abstand (e) zwischen der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) und der Wand des Reaktionsgefäßes (8) positionierbar ist.

3. Verfahren zur Suspension von Partikeln, die sich in einem Reaktionsgefäß befinden, bei dem ein vorbestimmtes Volumen einer Reagenzflüssigkeit mittels einer durch eine Transporteinrichtung bewegbaren Pipettiernadel in das Reaktionsgefäß gegeben wird, dadurch gekennzeichnet, dass

die Pipettiernadel (18) durch die Transporteinrichtung (13) zu einer ersten Position in einem Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) gebracht wird,

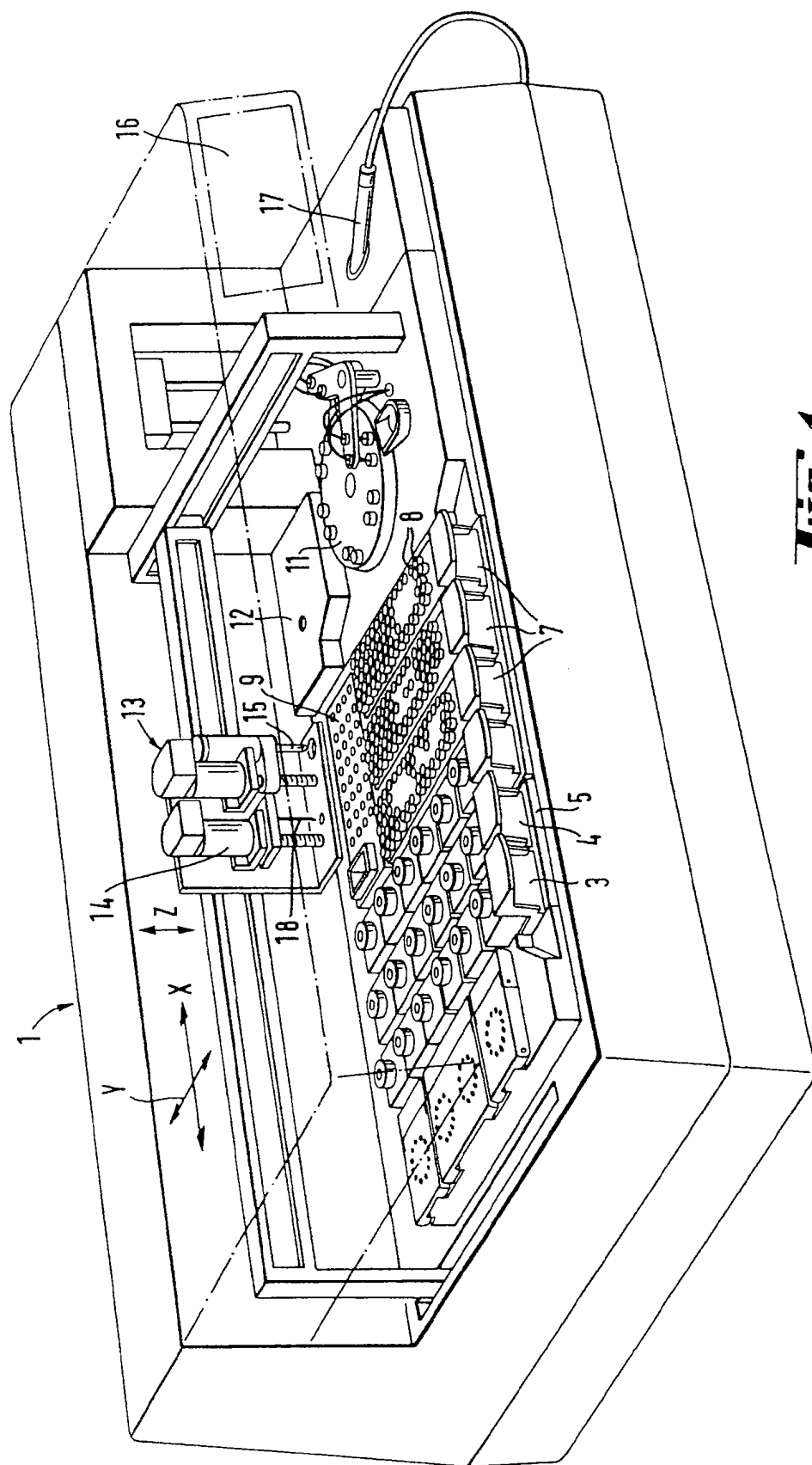
mit der Pipettiernadel (18) an dieser ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit (21) in das Reaktionsgefäß (8) unter Bildung eines ersten Wirbels (24) eingespritzt wird, wobei die Position der Pipettiernadel (18) im Reagenzglas (8) während des Einspritzens unverändert bleibt.

die Pipettiernadel (18) durch die Transporteinrichtung (13) zu einer zweiten Position in einem Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) gebracht wird,

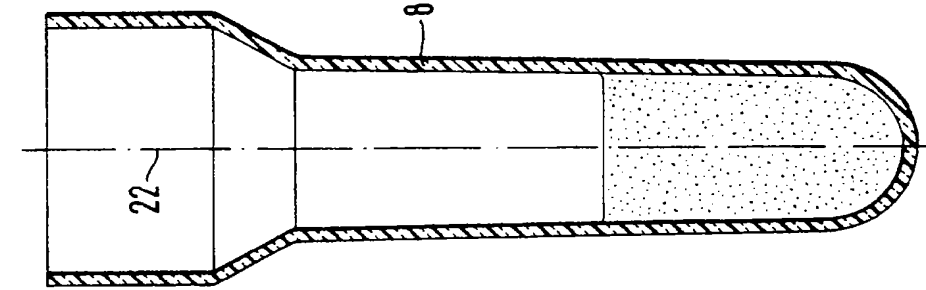
mit der Pipettiernadel (18) an dieser zweiten Position der restliche Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit (21) in das Reaktionsgefäß (8) unter Bildung eines

zweiten Wirbels (25) eingespritzt wird, der in bezug auf die Drehrichtung des ersten Wirbels (24) die entgegengesetzte Drehrichtung hat.

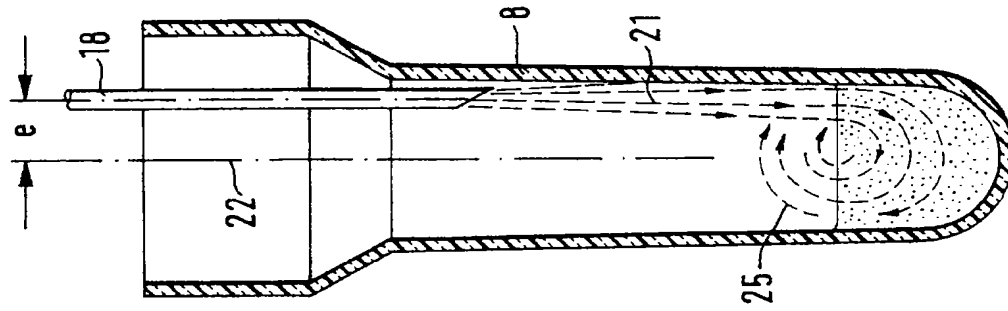
4. Verfahren zur Suspension von Partikeln gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Position im Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) in bezug auf die erste Position im Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) diametral gegenüberliegt.
5. Verfahren zur Suspension von Partikeln gemäß Anspruch 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, dass die in bezug auf die Mittellängsachse (22) diametral gegenüberliegenden Wandbereiche des Reaktionsgefäßes (8) in denen die Abgabe der Teilvolumina der Reagenzflüssigkeit (21) erfolgen, diejenigen Bereiche sind, an welchen die zu suspendierenden Partikel (19) zuvor anhaften
6. Verfahren zur Suspension von Partikeln gemäß einem der Ansprüche 3-5, dadurch gekennzeichnet, dass die Partikel (19) magnetische Mikropartikel sind.



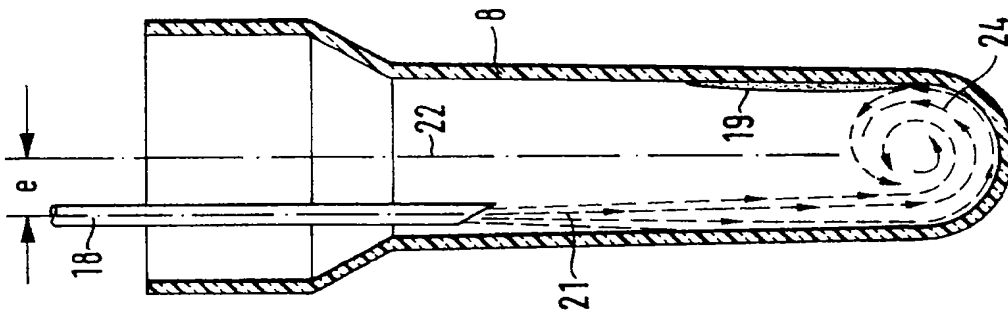
**Fig. 1**



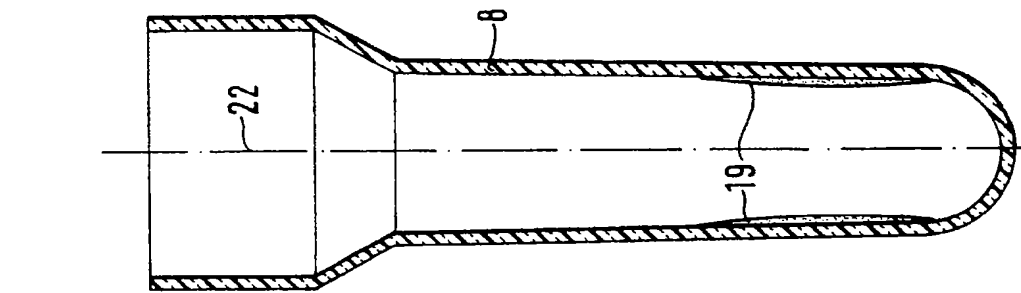
**Fig. 2**



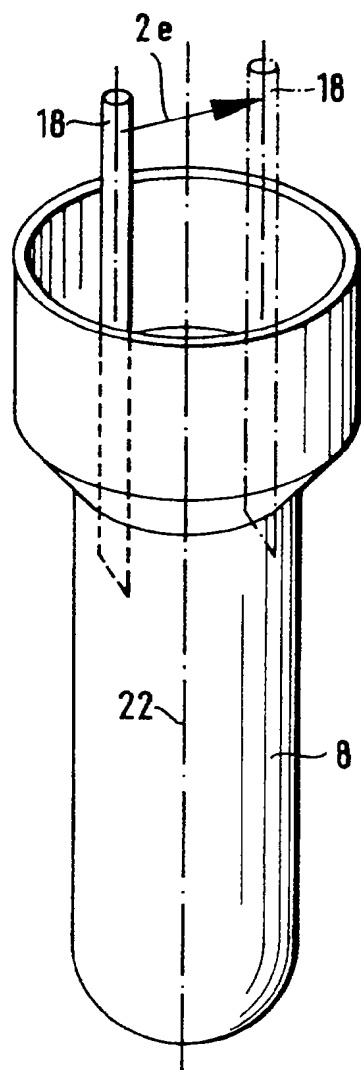
**Fig. 3**



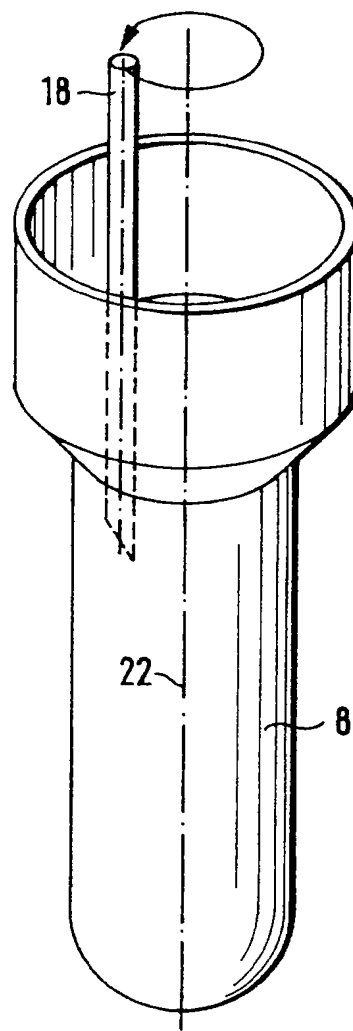
**Fig. 4**



**Fig. 5**



***Fig. 6***



***Fig. 7***



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 94 11 3833

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
Y	WO-A-91 16675 (APPLIED BIOSYSTEMS INC.) 31. Oktober 1991	1-3	G01N35/10 B01L11/00
A	* Seite 25, Zeile 2 - Zeile 19; Abbildung 4D *	4-6	G01N33/543
	---		
Y	DE-A-32 42 460 (DR BRUNO LANGE GMBH) 17. Mai 1984	1-3	
	* Seite 19, Zeile 19 - Seite 20, Zeile 5; Abbildung 2A *		
	---		
A	EP-A-0 131 259 (BEHRINGWERKE AG) 16. Januar 1985		
	---		
A	US-A-4 803 050 (D.R. MACK) 7. Februar 1989		
	-----		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			G01N B01L
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenart		Abschlußdatum der Recherche	
DEN HAAG		14. Dezember 1994	
		Prüfer	
		Hodson, M	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet			
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie			
A : technologischer Hintergrund			
O : mündliche Offenbarung			
P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze			
E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist			
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument			
L : aus andern Gründen angeführtes Dokument			
& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			